ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1970 N° 54

Les Ostéoblastes lyophilisés
Etude et Utilisation

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement en juin 1970

DEVANT LA

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

PAR

JOIRE (Thierry, Lucien, Roland)

Né le 5 mai 1944 à Neuilly-sur Seine (Seine)

Jury :

Président : M. FABRE (P. , Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse

Assesseurs { M. BERTHELON, Professeur à l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse
M. ROYAL, Professeur à l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE TOULOUSAINE Vve LION
16, RUE LAKANAL, 16

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536520_0051

JOIRE (Thierry, Lucien, Roland).

Les ostéoblastes lyophilisés.
Etude et utilisation.

Toulouse, Imp. Toulousaine, 1970,
in-8°, 69 pages.

Thèse Vétérinaire, Toulouse, 1970,
n° 54.

JOIRE (Thierry, Lucien, Roland).

Les ostéoblastes lyophilisés.
Etude et utilisation.

Toulouse, Imp. Toulousaine, 1970,
in-8°, 69 pages.

Thèse Vétérinaire, Toulouse, 1970,
n° 54.

JOIRE (Thierry, Lucien, Roland).

Les ostéoblastes lyophilisés.
Etude et utilisation.

Toulouse, Imp. Toulousaine, 1970,
in-8°, 69 pages.

Thèse Vétérinaire, Toulouse, 1970,
n° 54.

JOIRE (Thierry, Lucien, Roland).

Les ostéoblastes lyophilisés.
Etude et utilisation.

Toulouse, Imp. Toulousaine, 1970,
in-8°, 69 pages.

Thèse Vétérinaire, Toulouse, 1970,
n° 54.

Les Ostéoblastes lyophilisés

Etude et Utilisation

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
ANNÉE 1970 N° 54

Les Ostéoblastes lyophilisés
Etude et Utilisation

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement en juin 1970

DEVANT LA

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

PAR

JOIRE (Thierry, Lucien, Roland)
Né le 5 mai 1944 à Neuilly-sur Seine (Seine)

Jury :

Président : M. FABRE (P. , Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse

Assesseurs M. BERTHELON, Professeur à l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse
M. ROYAL, Professeur à l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE TOULOUSAINE Vve LION
16, RUE LAKANAL, 16
—
1970

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur . . . . . MM. FLORIO.
Directeurs honoraires . . . . . PONS.
DARRASPEN.

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie-Toxicologie.
— Professeur titulaire . . . . . GODFRAIN.
— Maître-Assistant . . . . . Mme BURGAT-SACAZE.
Pharmacie - Toxicologie.

Chaire de Physique-Chimie biologiques et médicales.
— Professeur titulaire . . . . . MM. RICO.
— Maître-Assistant . . . . . LORGUE.
Physique biologique et médicale. Chimie biologique et médicale.

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.
— Professeur titulaire . . . . . PAVAUX.
Anatomie descriptive. Extérieur. Anatomie appliquée. Tératologie.

Chaire de Physiologie - Thérapeutique.
— Professeur titulaire. . . . . RUCKEBUSCH.
— Maître-Assistant . . . . . FARGEAS.
Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie.

Chaire d'Histologie - Anatomie pathologique.
— Professeur titulaire. . . . . VAN HAVERBEKE.
— Maître de Conférences non Chef de Service. . . . . CABANIÉ.
Histologie - Embryologie - Anatomie pathologique.

Chaire d'Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale.
— Professeur titulaire . . . . . LABIE.
— Maître-Assistant . . . . . EECKHOUTTE.
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale.

Chaire de Parasitologie et Maladies parasitaires.
— Professeur titulaire . . . . . BRIZARD.
— Maître-Assistant . . . . . DORCHIES.
Zoologie appliquée. Parasitol. externe. Parasitol. interne. Clinique.

Chaire de Sémiologie et Pathologie médicale des équidés et carnivores.
— Professeur titulaire . . . . . FLORIO.
— Maître de Conférences non Chef de Service, Professeur sans chaire LESCURE.
— Maître-Assistant . . . . . GUELFI.
Sémiologie et Pathologie médicale des équidés et des carnivores.
Législation vétérinaire et déontologie clinique.

Chaire de Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.
— Professeur titulaire . . . . . TOURNUT.
— Maître de Conférences non Chef de Service. . . . . ESPINASSE.
Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour. Clinique. Clinique ambulatoire.

Chaire de Pathologie chirurgicale.
— Professeur titulaire . . . . . N...
— Maître-Assistant . . . . . CAZIEUX.
Propédeutique et Sémiologie chirurgicale. Technique chirurgicale. Pathologie chirurgicale. Podologie. Clinique.

Chaire de Pathologie de la Reproduction.
— Professeur titulaire . . . . . BERTHELON.
— Maître de Conférences non Chef de Service, Professeur sans chaire ROYAL.
Sémiologie et Propédeutique. Pathologie de la reproduction. Obstétrique. Clinique.

Chaire de Maladies contagieuses. Zoonoses. Législation sanitaire.
— Professeur titulaire . . . . . SAURAT.
— Maître-Assistant . . . . . CHANTAL.
Maladies contagieuses. Zoonoses. Législation sanitaire.

Chaire de Pathologie générale. Microbiologie. Immunologie.
— Professeur titulaire . . . . . LAUTIÉ.
Microbiologie. Immunologie. Pathologie générale.

Chaire de Zootechnie et d'Economie rurale.
— Professeur titulaire . . . . . QUEINNEC.
— Maître-Assistant . . . . . DARRÉ.
Ethnologie. Génétique appliquée. Hygiène générale. Zootechnie. Elevage. Economie générale et des productions animales.

Chaire d'Alimentation.
— Professeur titulaire . . . . . FALIU.
— Maître-Assistant . . . . . GRIESS.
Botanique appliquée et Bromatologie. Agronomie. Alimentation.

COURS COMPLEMENTAIRES - CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses . . . . . MM. MONNIER.
Aspect médical des Zoonoses . . . . . ARMENGAUD.
Energétique et Métabolismes . . . . . LABOUCHE.
Initiation à l'informatique biomédicale. . . . . FERNET.
Agronomie . . . . . BRISEBOIS.
Les Marchés internationaux de l'Elevage . . . . . BLANC.
Organisation de l'Elevage bovin . . . . . SABLAYROLLES.
Responsabilité civ. et pén. du Vétérinaire-Inspecteur des denrées aliment. LINON.
Rôle économique des Collectivités locales . . . . . EECKHOUTTE.
Rentabilité de l'élevage. . . . . ROUCH.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats.
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924.)

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

A MA FEMME

A MES ENFANTS

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur Pierre FABRE

de la Faculté de Médecine de Toulouse

Qui a bien voulu nous faire le grand honneur de présider notre Jury de thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de notre hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

Monsieur le Professeur BERTHELON

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Chevalier de la Légion d'honneur

En remerciement pour toute la sollicitude qu'il nous a toujours marquée et les conseils qu'il nous a prodigués.

Qu'il veuille trouver ici l'hommage de notre profond respect et de notre vive reconnaissance.

Monsieur le Professeur ROYAL

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pour la grande bienveillance dont il a toujours fait preuve à notre égard au cours de ces années d'étude.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude.

A Monsieur le Professeur COULON

Professeur de Pathologie chirurgicale
à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui a présidé à notre formation chirurgicale et qui nous a fait le grand honneur de juger ce travail.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde reconnaissance.

Au Docteur et Madame BOURLAND

Grâce à qui ce travail a pu être réalisé.

Qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance et de notre amitié.

Au Docteur F. BATISSE

Dont la grande compétence en matière d'histologie nous a été très précieuse.

Avec tous nos remerciements.

A Madame ROUYER

Avec tous nos remerciements.

PLAN

•

Introduction.

ETUDE DU PRODUIT

I. Préparation.

II. Stérilité.

III. Propriétés analytiques.

1) Caractères organoleptiques.
2) Taux d'humidité.
3) Identification par électrophorèse.
4) Taux d'azote total.
5) Taux d'azote aminé.
6) Taux de phosphore, calcium, soufre.
7) Identification par chromatographie.

IV. Toxicologie.

ETUDE EXPERIMENTALE

I. Expérimentation sur des animaux de laboratoire.

1) Etude hématologique.
2) Etude radiologique.

II. Action de l'extrait enchondral ostéoblastique sur la multiplication des ophryoglènes.

UTILISATIONS THEREPEUTIQUES

I. Utilisation des ostéoblastes lyophilisés pour le redressement des oreilles des chiens.

Examen histologique des divers prélèvements effectués.

1) Oreilles de chat.
2) Oreilles de chien.
3) Commentaires des résultats et photographies prises au microscope.

II. Utilisation du produit dans les chimiodystrophies osseuses des carnivores.

1) RAPPEL PHYSIOLOGIQUE.
   a) *Période de croissance.*
   b) *Remaniement osseux.*
   c) *Structure de l'os.*
   d) *Ostéogenèse.*

2) UTILISATION THÉRAPEUTIQUE DANS L'OSTÉOPOROSE.
   a) *Ostéoporose du chien.*
      Utilisation thérapeutique.
      Explication physiopathologique de l'activité du produit.
   b) *Ostéoporose du chat.*
      Utilisation thérapeutique.
      Physiopathologie.

3) LE RACHITISME.
   Symptômes cliniques.
   Symptômes radiologiques.
   Signes biologiques.
   Utilisation thérapeutique.

III. Utilisation du produit en pathologie traumatique osseuse.

1) RAPPEL HISTOLOGIQUE ET HISTOCHIMIQUE.
   a) *Stade précoce.*
   b) *Formation du cal.*
   c) *Stade de remodelage du cal.*

2) UTILISATION.

IV. Utilisation du produit dans les leucopénies.

CONCLUSION.

BIBLIOGRAPHIE.

INTRODUCTION

Durant ces cent dernières années, on a pu passer successivement de la pathologie cellulaire de VIRCHOW à la biologie cellulaire de CARREL pour aboutir présentement à la thérapeutique cellulaire.

Au milieu du siècle dernier, VIRCHOW reconnaissait que l'atteinte de la cellule précédait la maladie de l'organisme; il apportait alors au monde médical sa pathologie cellulaire dans laquelle il montrait que l'organisme de l'homme est un puissant ensemble de cellules. Le cerveau de l'adulte a lui seul, pour DELMAS, est un composite de neuf milliards de neurones, tandis que notre corps tout entier en possède quarante trillions.

VIRCHOW appelait la cellule « une porteuse de vie ». Elle est à elle seule un petit organisme qui tend à se maintenir, assimile, échange et excrète. Que la cellule soit à la surface ou dans quelque profondeur de notre organisme, elle conduit sa propre vie, et pendant toute notre existence, sans arrêt, des cellules naissent, tandis que d'autres meurent. Très peu seulement restent intactes tout au long de notre vie.

La maladie du corps est une maladie de ses cellules.

Les bases de la biologie cellulaire sont l'œuvre d'Alexis CARREL; par ses nombreuses expériences, la

persistante jeunesse des cellules est mise en évidence et ce, pour que des soins appropriés leur soient donnés. C'est ainsi que des fragments d'un cœur de poulet, vingt-cinq ans après la mort de la volaille, soit à peu près le temps de six générations, sont toujours en vie, ne montrent pas de signes de vieillissement.

Nous avons une idée de la merveille que constituent par leur nombre incommensurable et par l'activité propre à chacune d'entre elles, toutes ces vies cellulaires de notre corps, dont elles entretiennent la vie, en considérant par exemple qu'une modeste cellule épithéliale de la peau est apte à modifier sa pigmentation, apte à répondre à l'action du chaud et froid par l'exsudation et la séchersse, qu'elle enregistre des courants électriques, qu'elle peut rougir et pâlir, ainsi que distinguer entre des ondes de qualités diverses telles que celles de la lumière simple ou décomposée, ou encore celles des vibrations acoustiques.

A l'étude Carrel montre l'influence des cellules saines sur des cellules malades. C'est ainsi que des cultures cellulaires sur le point de périr retrouvent une vie nouvelle par adjonction de cellules fraîches correspondantes, tant est grande la capacité de régénération que la nature très sage place dans ces cellules fœtales ou jeunes aux forces mystérieuses.

Lorsqu'on veut remonter aux sources, il est facile de se rendre compte que la thérapeutique cellulaire a déjà sa mention dans les tout premiers documents que nous a donné et laissé la médecine des premiers hommes. L'art de guérir des premiers temps est déjà convaincu que l'incorporation d'organes de jeunes animaux est à même d'apporter la force et la guérison.

Le papyrus d'Eber, le document le plus ancien, mentionne des préparations tirées d'organes d'animaux.

En 1400 avant J.-C., le médecin hindou Susruta recommande à ses concitoyens souffrant d'impuissance de manger des glandes génitales de jeunes tigres.

Homère rapporte qu'Achille ingérait de la moelle osseuse de lion aux fins d'augmenter ses forces et son courage.

Dans la *Materia medica* d'Aristote et chez Pline l'Ancien, il est parlé d'extraits d'organes comme des moyens thérapeutiques efficaces.

Au III^e^ siècle, les médecins prescrivent comme fortifiant le placenta humain.

Enfin, au début du XVI^e^ siècle, Paracelse enseigne que le « cœur guérit le cœur, le rein le rein et *similia similibus curantur* ».

On voit donc que la thérapeutique cellulaire prend ses sources fort loin dans le passé et elle n'a depuis cessé de s'améliorer.

De nombreuses préparations ont jusqu'ici été réalisées à partir de différents organes de l'économie,, mais pas encore à partir d'os.

On essaiera donc, dans ce qui va suivre, d'aborder l'étude et l'utilisation des ostéoblastes lyophilisés.

ÉTUDE DU PRODUIT

I. Préparation

Le produit est extrait à partir des parties enchondrales d'os longs fœtaux de mammifères.

L'âge fœtal des os utilisés peut varier d'un à neuf mois, mais l'âge favorable est d'un à quatre mois.

Les parties enchondrales sont utilisées fraîches ou préalablement congelées.

Elles sont broyées puis mises en suspension dans l'eau distillée amené à un pH voisin de 7 ou dans une solution tampon d'un pH du même ordre.

La proportion d'os broyés mis en suspension est d'environ 200 grammes d'os pour 500 millilitres d'eau ou de solution tampon.

La suspension est agitée, puis laissée au repos pendant une durée de temps comprise entre deux et douze heures à une température voisine de + 4 °C.

Par une première centrifugation, on sépare la phase aqueuse que l'on conserve à une température voisine de + 4 °C. Le culot de centrifugation est repris par environ 500 millilitres d'eau distillée amenée à un pH de 9 par addition de lessive de soude ou d'une autre base.

Cette suspension alcaline est maintenue à une température voisine de + 4 °C pendant environ quatre à douze heures.

Par une deuxième centrifugation, on sépare à nouveau la phase liquide alcaline que l'on soumet à une agitation puis que l'on conserve à + 4 °C, toujours pendant une durée de quatre à douze heures.

Le culot est repris ensuite par environ 500 millilitres d'eau amenée à un pH voisin de 4 par addition d'acide acétique de préférence.

La suspension, après agitation, est elle aussi abandonnée à + 4 °C environ pendant quatre à douze heures et, par une troisième centrifugation, on sépare la phase liquide acide.

On réunit alors les trois phases liquides, ce qui donne finalement un mélange voisin de la neutralité.

Ce mélange est soumis à une centrifugation puis à des filtrations successives.

Le filtrat final, limpide, est lyophilisé.

II. Stérilité

Les contrôles de stérilité ont été réalisés selon la méthode décrite dans le Codex 1949 à l'additif n° 31 (*J.O.*, 24 déc. 1965).

Bactéries aérobies et anaérobies : absentes.

Moisissures, levures : absentes.

III. Propriétés analytiques

1) Caractères organoleptiques

Le produit se présente sous forme d'une poudre granuleuse de couleur marron clair, inodore, insipide, facilement soluble dans l'eau et dans les solutés physiologiques aqueux usuels.

2) Taux d'humidité

Le taux d'humidité doit être inférieur ou égal à 5 pour cent.

3) Identification par électrophorèse

L'électrophorèse en tampon véronal pH 8,6, sur papier Whatman n° 2, en haute tension 360 volts, 0,5 milliampère par centimètre, pendant cinq heures, révélé par le noir d'amide en méthanol acétique, permet de mettre en évidence que la partie active de produit migre au niveau des α globulines.

L'électrophorèse permet de déceler la présence d'acides nucléiques.

4) Taux d'azote total

D'après la méthode décrite dans le Codex 1949, page 1068, le taux d'azote total peut varier de 7 à 10 pour cent.

5) Taux d'azote aminé

D'après la méthode Sorenssen, décrite dans le Codex 1965, page 788, le taux d'azote aminé varie de 0,7 à 1 pour cent.

6) Taux de phosphore, calcium, soufre

D'après la méthode décrite dans le Codex 1965, page 1568 :

— le taux de phosphore est d'environ 18 pour cent;
— le taux de calcium de 2,2 pour cent;
— le taux de soufre de 1,6 pour cent.

7) Identification par chromatographie

Par chromatographie sur papier Whatman n° 2, en

milieu butanol acétique et révélation à la ninhydrine, on constate que le produit étudié ne présente pas d'acides aminés libres avant hydrolyse, mais l'hydrolyse permet de mettre en évidence les acides suivants :

— alamine,
— argynine,
— acide aspartique,
— cystéine,
— acide glutamique,
— glysol,
— histidine,
— phénylalanine,
— proline,
— sérine,
— thréonine,
— thyrosine,
— valine,
— méthionine.

IV. Toxicologie

La D.L. 50 a été pratiquée sur des lots de vingt souris.

Cinq doses ont été utilisées :

— 0,05 millilitre,
— 0,10 —
— 0,25 —
— 0,50 —
— 1,00 —

d'une teneur en produit référée à 600 milligrammes d'extrait par kilogramme de poids vif (soit approximativement 12 milligrammes pour une souris de 20 grammes).

Les souris ont été mises en observation pendant huit jours.

Aucune mort n'a été constatée.

En conclusion, la toxicité aiguë chez la souris se montre nulle jusqu'à la dose de 600 milligrammes par kilogramme de poids vif.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

I. Expérimentation sur des animaux de laboratoire

L'étude expérimentale et pharmacologique du produit et son activité ostéogénique ont été réalisées sur des lapins sur lesquels on a pratiqué une fracture sur un des os de la patte avant.

Mais la réalisation d'une fracture expérimentale pose certains problèmes que l'on a envisagés.

En ce qui concerne la réalisation proprement dite de la fracture tout d'abord, elle s'effectue sur un sujet légèrement anesthésié à l'éther, et par flexion entre deux pinces de kocher on réalise la fracture en partie médiane d'un des os de la patte avant. On essaie de ne pas blesser les ligaments et on évite de trop grands délabrements musculaires.

Il faut signaler que la réaction secondaire à la fracture et son retentissement général sont beaucoup moins intenses chez le lapin que chez le rat, et que cette fracture dans l'ensemble est assez bien supportée, bien que quelques cas de mortalité soient toujours observés.

La fixation du foyer de fracture pose également un problème.

Il faut d'abord préciser que l'immobilisation plâtrée doit être rejetée car les lapins en meurent.

La fixation métallique extérieure, l'enclouage sont possibles, mais longs et difficiles.

Finalement, la meilleure technique consiste à réaliser dans les conditions précisées une fracture transversale complète, avec un déplacement des fragments, et à laisser l'un des deux os, radius ou cubitus, resté intact, immobiliser l'autre os et à lui servir d'attelle.

1) Étude hématologique

Les animaux d'expérience, qui sont tous de même race, de même âge et de même poids, sont d'abord soumis à un examen hématologique. La formule sanguine de chacun d'eux est établie et les animaux à formule anormale sont éliminés. Les animaux sont alors répartis en trois lots :

— Le premier lot, lot témoin, ne reçoit aucune injection.

— Le deuxième lot reçoit, le troisième jour après la fracture, une injection intramusculaire de produit correspondant à 50 mg/kg d'organe frais.

Cette injection est répétée le septième jour et le douzième jour après la fracture.

— Le troisième lot reçoit une injection de la même quantité de produit avec les mêmes intervalles de temps, mais les injections sont pratiquées *in situ*.

2) Étude radiologique

Un contrôle radiologique de la fracture est pratiqué sur les animaux de chaque lot dès le premier jour.

Les contrôles suivants sont ensuite effectués en cours d'expérimentation.

Lot n° 1.

— Formule sanguine : les quatrième, sixième, huitième et treizième jours.

— Radiographie : les neuvième, quatorzième et trentième jours.

— Biopsie du cal : les douzième et vingtième jours.

Lot n° 2.

— Formule sanguine : les quatrième, sixième, huitième et treizième jours.

— Radiographie : les neuvième, quatorzième et trentième jours.

— Biopsie du cal : les douzième et vingtième jours.

Lot n° 3.

— Formule sanguine : les quatrième, sixième, huitième et treizième jours.

— Radiographie : les neuvième, quatorzième et trentième jours.

— Biopsie du cal : les douzième et vingtième jours.

On exerce une surveillance constante de la consolidation osseuse :

— Cliniquement, par la mobilité des fragments osseux, la constance du cal ; l'objectivité de cette appréciation est incertaine.

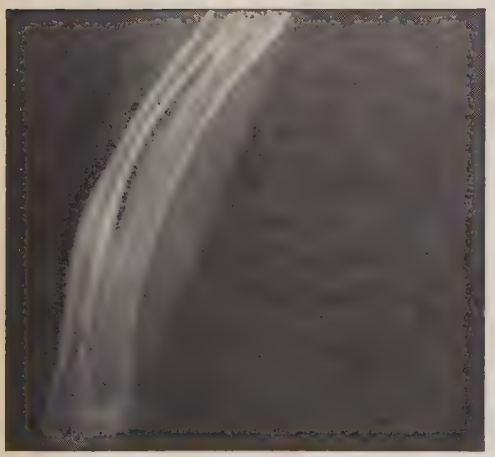
— Radiologiquement, par des contrôles aux dates indiquées.

RADIOS COMPARATIVES DES MEMBRES ANTERIEURS DU LAPIN AU COURS DE L'ELABORATION DU CAL

Lapin témoin

N° 48 + 14 jours.

N° 65 + 14 jours.



N° 48 + 30 jours.

N° 65 + 30 jours.

Ces radios, prises respectivement quatorze et trente jours après la fracture sur des animaux témoin, d'une part, et sur des animaux traités, d'autre part, montrent que chez ces derniers le cal apparaît plus intense et surtout plus opaque aux rayons X que chez les autres.

TABLEAU RECAPITULATIF DES FORMULES SANGUINES DU LAPIN :
NOMBRE DE GLOBULES BLANCS

	Lapin n° 55 (Témoin)	Lapin n° 48	Lapin n° 3
1er jour..... (avant fracture)	5 200	7 500	6 300
4e jour.....	6 200	13 000	17 050
6e jour.....	6 400	12 100	19 000
8e jour.....	6 000	13 000	18 910
13e jour.....	6 100	12 900	19 750

On constate donc que le produit a une action remarquable en modifiant la formule blanche des sujets traités.

On remarque en effet que, chez les lapins témoins, la formule blanche varie peu au cours de la réparation de la fracture, alors que, chez les lapins traités, les globules blancs augmentent de 50 pour cent environ.

II. Action de l'extrait enchondral ostéoblastique sur la multiplication des ophryoglènes

En collaboration avec Mme Rouyer, l'expérimentation du produit sur la multiplication de certains proto-

zoaires particulirèment intéressants s'est révélée très fructueuse. Mais on doit rappeler les caractéristiques essentielles de ces protozoaires.

Les ophryoglènes sont des protozoaires de la classe des ciliés dont les caractéristiques principales sont les suivantes : elles sont histiophages, c'est-à-dire qu'elles se nourrissent de cellules animales provenant d'un organe de vertébrés ou d'invertébrés.

Elles possèdent deux noyaux : le macronucléus, dit végétatif et qui serait polymérisé, donc à chromosomes multiples, et le ou les micronucléi jouant un rôle dans la division cellulaire.

L'avantage de cet infusoire réside surtout dans sa facilité de mise en culture, ce qui permet de pratiquer sur lui toute une série d'expériences cytologiques et physiologiques.

Nous avons réussi à mettre en culture axénique *Ophryoglena mucifera*, relativement de grande taille, 350 μ, dont le macronucléus est large, en forme de feuille, et les cinq ou six micronucléi sont en bâtonnets.

Comme toutes les ophryoglènes, cette espèce présente un cycle physiologique de reproduction qui est très spécial et diffère complètement de la multiplication par simple bipartition de la plupart des protozoaires.

Son processus de reproduction est le suivant :

Nous partons de l'individu nageant librement dans l'eau en quête de nourriture, c'est le théronte chasseur; s'il rencontre un tissu animal provenant d'un organisme fraîchement tué ou encore vivant, il y pénètre, s'en nourrit, triple de volume (trophonte), sort de l'élément nourricier et se met à nager lentement, puis s'enkyste en sécrétant un kyste muqueux (tomonte). Dans le cas d'*Ophryoglena mucifera*, le mucus est très épais, ce qui sépare largement les individus-fils provenant de deux divisions du tomonte sous le kyste. Nous obtenons ainsi

des tomites qui, libérés du kyste, redonneront des thérontes chasseurs.

Mais l'avantage primordial de cet unicellulaire c'est de se diviser synchroniquement et à volonté, ce qui est probablement unique dans le monde cellulaire.

En effet, si l'on nourrit une centaine de thérontes chasseurs en même temps, trente-six heures après, à 18 °C, nous aurons obtenu quatre cents tomites-fils.

On peut alors étudier facilement et en détail les différentes phases de la division.

En faisant agir le facteur température, on a ainsi obtenu un phénomène létal « la palintomie ». Pour cela, il suffit de nourrir les ophryoglènes avec un tissu embryonnaire de vertébré ou d'invertébré et de placer la culture à 28 °C. Au bout de quarante-huit heures, nous obtenons à 90 pour cent des kystes contenant des tomites nains, non viables, à bouche réduite et à micronucléi proportionnellement énorme et jamais quiescent. Au lieu de subir deux divisions sous le kyste, l'infusoire s'est divisé un grand nombre de fois et d'une façon anarchique.

Nous réussissons maintenant à déclencher la palintomie avec des extraits embryonnaires et des tissus cancéreux.

Ce phénomène létal peut être également provoqué dans une culture axénique de ce protozoaire histiophage par des extraits aqueux d'embryon de poulet et de rate fœtale, cette dernière lyophilisée pour faciliter sa conservation.

Nous avons alors tenté de voir l'action d'extrait d'os fœtal. Pour ce faire, 20 centimètres cubes d'eau distillée ont servi à dissoudre 200 milligrammes de substance osseuse lyophilisée, stérilisée ensuite par filtration sur millipore.

La solution ainsi obtenue est alors perfusée dans

un tissu inactif à la division cellulaire (inactivation par la chaleur), ce qui permettra à l'infusoire d'ingérer le produit à essayer, puisqu'il s'alimente du support. En effet, ces unicellulaires ont une membrane protoplasmique imperméable à la pénétration par osmose des molécules polymérisées.

Il en résulte que les ophryoglènes, qui, d'habitude, après ingestion des éléments tissulaires inactivés ne se divisent plus, donnent, grâce à l'extrait d'os fœtal, des bipartitions normales et se multiplient pendant au moins deux générations.

On peut donc penser qu'il existe, dans les extraits osseux de fœtus de bovin, une substance favorisant la division des unicellulaires histiophages, particulièrement sensibles à certains éléments embryonnaires de vertébrés.

UTILISATIONS THÉRAPEUTIQUES

Les utilisations thérapeutiques des ostéoblastes lyophilisés sont assez nombreuses, mais on peut les classer en plusieurs rubriques, bien distinctes les unes des autres.

— En matière esthétique, pour le redressement des oreilles des chiens.

— Dans les différentes ostéopathies.

— Dans les hémopathies par carence en globules blancs, c'est-à-dire les leucopénies.

I. Utilisation des ostéoblastes lyophilisés pour le redressement des oreilles des chiens

Le port des oreilles varie considérablement chez le chien d'une race à l'autre. On peut dans cet ordre d'idée distinguer trois catégories :

— les chiens à oreilles dressées,

— les chiens à oreilles semi-tombantes dont la base est dressée et dont la pointe retombe,

— les chiens à oreilles tombantes. Dans cette catégorie, on trouve plusieurs degrés, y compris les chiens qui ont les oreilles naturellement tombantes, mais qui les dressent après amputation.

Le standard précise pour chaque race de façon détaillée comment doivent être portées ou coupées les oreilles, toutefois il y a lieu de préciser les différents défauts que l'on peut rencontrer par rapport au port recherché.

Ces défauts peuvent être de simples défauts d'esthétique ou de divergence par rapport au standard, ou de véritables anomalies, soit de naissance, soit à la suite de maladies ou d'accidents, soit à la suite d'interventions malencontreuses.

On trouve aussi des chiens à oreilles plantées trop haut ou trop bas, ou trop en avant, des chiens à oreilles trop courtes ou trop longues, ou trop décollées de la tête.

On peut également rencontrer des chiens qui devraient avoir des oreilles dressées, mais qui les ont cassées, ou dont les cartilages manquent de rigidité. On rencontre aussi des chiens dont la base de l'oreille devrait être cassée et la pointe retombante et où le tout est dressé.

On trouve enfin des chiens qui ont eu les oreilles amputées dans le but de les faire dresser et pour lesquels le résultat escompté n'a pas été obtenu.

On voit donc que les possibilités de port anormal ou disgracieux des oreilles sont fréquentes et nombreuses. Toutefois on n'a utilisé à titre thérapeutique les extraits d'ostéoblastes que dans certains cas, qui sont les suivants :

— Oreilles naturellement dressées qui le sont insuffisamment : type Berger allemand.

— Oreilles insuffisamment redressées après amputation partielle : type Boxer.

— Oreilles semi-tombantes à port défectueux : type Fox.

L'utilisation des ostéoblastes lyophilisés comme thérapeutique du redressement d'oreilles s'est fait d'après le protocole suivant :

On met en solution 400 milligrammes du produit dans 1 à 2 centimètres cubes de sérum physiologique, suivant la laxité du tissu conjonctif et la taille de l'oreille traitée.

On infiltre l'oreille avec la solution obtenue d'une façon linéaire en suivant le pli de cassure ou de cambrure.

On utilise pour ce faire une seringue de 2 centimètres cubes et une aiguille 15/5 très bien adaptée à cet usage.

Les infiltrations se font toujours en face externe de l'oreille où le tissu conjonctif sous-cutané est plus lâche et plus accessible.

Le rythme d'infiltrations d'une par semaine a semblé être le plus favorable et, dans la majorité des cas, quatre infiltrations ont été nécessaires pour obtenir une amélioration sensible et six pour obtenir un bon résultat.

En effet, ce sont les observations suivantes qui ont permis de préconiser ce protocole et ce rythme d'utilisation.

Observation n° 1

« Quipo », Danois arlequin de six mois.

Troubles observés : oreilles molles, dans leur ensemble et notamment les extrémités distales qui retombent sur la tête. (Fig. 1.)

a) Première infiltration : 13 février 1968.

Infiltration d'une solution faite avec 400 milligrammes d'ostéoblastes dilués avec 2 centimètres cubes de sérum physiologique dans chaque oreille.

L'injection se fait d'une façon verticale suivant la ligne de cambrure de l'oreille.

b) Deuxième infiltration : 20 février.

On ne note pas d'amélioration sensible par rapport à la semaine précédente.

On effectue une infiltration dans les mêmes conditions.

c) Troisième infiltration : 27 février.

On constate une légère amélioration.

On renouvelle la même infiltration.

d) Quatrième infiltration : 10 mars.

Le port de l'oreille gauche est amélioré d'une façon sensible, mais l'oreille droite reste inélégante.

On effectue une nouvelle infiltration dans chaque oreille.

e) Cinquième infiltration : 20 mars.

On constate que l'oreille gauche est tout à fait droite. L'oreille droite est légèrement redressée, mais l'extrémité distale reste un peu fléchie. On fait la même infiltration dans chaque oreille.

f) Sixième visite : 2 avril.

L'oreille gauche est absolument satisfaisante, l'oreille droite manque toujours un peu de fermeté.

On injecte seulement cette dernière au point de cambrure.

On a revu le chien au mois de juin suivant, ses oreilles étaient très élégantes, seule l'extrémité de la droite restait un peu fléchie.

On a refait deux infiltrations dans l'oreille droite au point de cambrure à huit jours d'intervalle.

Le résultat obtenu a été très satisfaisant et le chien Danois arlequin a obtenu plusieurs premiers prix dans des expositions canines régionales.

Observation n° 2

« Dick », Berger allemand de quatre mois.

Le chien était présenté à la consultation en raison de ses oreilles tombantes, inesthétiques, et qu'il redressait d'une façon intermittente et incomplète. (Fig. 2.)

a) Première infiltration : 3 juin 1968.

On a effectué une infiltration dans chaque oreille avec 400 milligrammes de produit solubilisé dans 1,5 millilitre de sérum physiologique.

Cette infiltration se fait d'une façon traçante et linéaire suivant l'axe vertical ou oblique de l'oreille, donc en ne suivant pas exactement le pli de cambrure.

Dès cette première infiltration, on observe une légère amélioration du port et surtout de l'oreille gauche.

b) Deuxième infiltration : 10 juin.

On effectue la même opération suivant la même technique.

c) 17 juin.

On constate un grand progrès en ce qui concerne l'oreille gauche qui a presque un port normal. L'oreille droite est également améliorée, mais d'une façon moins nette.

d) 24 juin.

Lors de cette consultation, on s'aperçoit que l'oreille gauche est absolument normale et même très droite.

Le port de l'oreille droite est amélioré, mais les progrès sont moins spectaculaires.

On effectue les mêmes infiltrations.

e) 1er juillet.

On constate sur l'oreille gauche une plaie linéaire assez profonde due à un grattage intempestif de l'animal.

On s'abstient de toute intervention, l'oreille gauche étant très satisfaisante et l'oreille droite blessée.

On a eu l'occasion de revoir ce chien sept semaines après la dernière injection; la cicatrisation de la plaie avait retardé le redressement de l'oreille droite, mais le port des deux oreilles était très satisfaisant.

Observation n° 3

« Rita », Berger allemand femelle de trois mois.

Cette jeune chienne était présentée à la consultation pour les raisons suivantes :

— L'oreille gauche avait été cassée au cours d'une bagarre.

— L'oreille droite était tombante et l'animal n'avait aucune tendance à relever ni l'une ni l'autre.

a) Première infiltration : 13 juin 1968.

On effectue, suivant un axe vertical et dans les mêmes conditions que précédemment, une infiltration linéaire d'une solution réalisée avec 400 milligrammes de produit, dans chaque oreille.

b) Deuxième infiltration : 21 juin.

On constate une amélioration légère, mais nette des deux ports d'oreilles.

On effectue les mêmes injections.

c) Troisième infiltration : 28 juin.

L'amélioration constatée se précise et l'oreille droite surtout est très satisfaisante.

d) Infiltration : 20 juillet.

Après cette interruption inopportune du traitement, on constate que si l'oreille droite reste satisfaisante,

l'oreille gauche est complètement retombée pendant ces trois semaines d'interruption.

On reprend le traitement dans les mêmes conditions.

e) Infiltration : 27 juillet.

L'oreille droite apparaît absolument normale.

L'oreille gauche est très améliorée, mais n'est pas tout à fait satisfaisante.

On n'infiltre que l'oreille gauche.

f) Infiltration : 4 août.

Le port de l'oreille gauche reste stationnaire et une nouvelle infiltration n'a apporté qu'une légère amélioration.

Observation n° 4

« Tim », chien de sept mois dont la mère seulement était un chien Berger allemand.

Les oreilles de ce chien étaient complètement tombantes et leur port n'était pas du tout celui d'un Berger allemand; mais le maître voulait absolument les faire redresser pour essayer le plus possible de faire ressembler son chien à un vrai Berger allemand.

On a fait des infiltrations traçantes linéaires, obliques, à la base de l'oreille, pour essayer de fortifier cette base en espérant que les oreilles redresseraient peut-être avec cet appui plus ferme.

On a aussi effectué, suivant le protocole préconisé, six infiltrations, suivant l'axe indiqué, à une semaine d'intervalle.

Au bout de ces six semaines, les oreilles n'étaient pas dressées, mais le renforcement de la base faisait en sorte que cette base était portée perpendiculairement à la tête et que l'extrémité tombait toujours.

Observation n° 5

« Zouky », Berger allemand mâle de trois mois.

Ce chien nous était présenté pour un non-redressement complet de l'oreille droite.

a) Le 23 avril 1968.

On a procédé à une infiltration de 400 milligrammes d'extrait ostéoblastique à la base de l'oreille et en trois points différents. (Fig. 3.)

b) 30 avril.

On constate déjà une amélioration intéressante.

On effectue la même intervention.

c) 7 mai.

L'amélioration est très importante, l'oreille est presque complètement droite.

On procède cette fois à des infiltrations de la même quantité de produit, mais d'une façon linéaire et suivant deux axes obliques. (Fig. 4.)

d) 23 mai.

Le résultat obtenu est très satisfaisant; l'oreille tout à fait droite, on effectue tout de même une dernière infiltration de la même façon que lors de la séance précédente.

Nous avons eu l'occasion de revoir le chien quelques semaines après : son port d'oreilles était excellent.

Observation n° 6

« Sultan », Berger allemand de six mois.

Ce chien présentait un non-redressement partiel de l'oreille droite qui retombait complètement à mi-hauteur.

Cette oreille en outre présentait la particularité d'être anormalement épaisse et particulièrement molle.

On a effectué, suivant le protocole préconisé, des infiltrations d'une solution faite avec 400 milligrammes du produit et celles-ci suivant l'axe de courbure et plicature de l'oreille.

L'amélioration obtenue a été minime et à la fin du traitement l'oreille n'était que très faiblement redressée.

Observation n° 7

« Rex », Groenendael de cinq mois, nous était présenté pour un manque de fermeté de l'oreille gauche qui était repliée à mi-hauteur.

On a effectué de la même façon quatre infiltrations suivant l'axe longitudinal de l'oreille, qui ont amené un redressement très satisfaisant de l'oreille.

Observation n° 8

« Pin-Pon », Berger allemand de quatre mois, qui était présenté en raison du non-redressement de l'oreille droite qui était pliée très bas.

En intervenant de la même façon, on a obtenu un excellent résultat final en six séances avec déjà une amélioration très nette au bout de trois semaines et qui s'est affirmée et confirmée les trois semaines suivantes.

Observation n° 9

« Radar », Dogue allemand de sept mois, qui était présenté cinq mois après sa coupe d'oreille pour un

non-redressement partiel de l'oreille droite et complet de l'oreille gauche.

A chaque intervention, on a pratiqué une injection de 800 milligrammes de produit dans l'oreille gauche et de 400 milligrammes dans l'oreille droite.

L'amélioration a été très lente et très longue; toutefois, au bout de six séances, l'oreille droite était bien redressée, mais le résultat obtenu sur l'oreille gauche était insuffisant. C'est pourquoi on a envisagé une réintervention chirurgicale sur cette oreille quelques semaines plus tard.

Observation n° 10

« Betty », chienne Airedale-terrier de sept mois.

D'après le standard, dans cette race les oreilles doivent être en forme de V et portées de côté; et la ligne supérieure du pli de l'oreille doit dépasser le plat du crâne.

Une oreille qui pend à la façon de celle des courants est incompatible avec le terrier, or c'est ce défaut que présentait la chienne que l'on a traitée.

On a donc fait des infiltrations linéaires près de l'insertion de l'oreille sur la tête et perpendiculaires au crâne.

Le système d'intervention est toujours le même et l'on a réussi à faire en sorte que le port des oreilles devienne conforme au standard.

On a pratiqué six injections et les améliorations ne se sont fait vraiment sentir qu'après la quatrième infiltration.

Observation n° 11

« Jimbo », chien de sept mois, dont l'un des parents seulement était un Berger malinois.

Ce jeune chien était présenté pour un non-redressement complet des deux oreilles. Là encore il a fallu intervenir « contre nature » puisque ce chien n'était pas de race pure et que son port d'oreille ne faisait que refléter le croisement dont il était issu.

On a procédé toujours de la même façon et en six semaines on a obtenu un résultat très convenable. Le résultat n'avait rien de comparable avec certains résultats dont on a fait état, mais, étant donné les conditions d'intervention, le port d'oreille de ce chien pourrait être jugé à peu près convenable.

Observation n° 12

« Rintintin », Berger allemand de onze mois.

Ce chien nous était présenté, comme les fois précédentes, en raison de ses oreilles molles et ne se redressant pas.

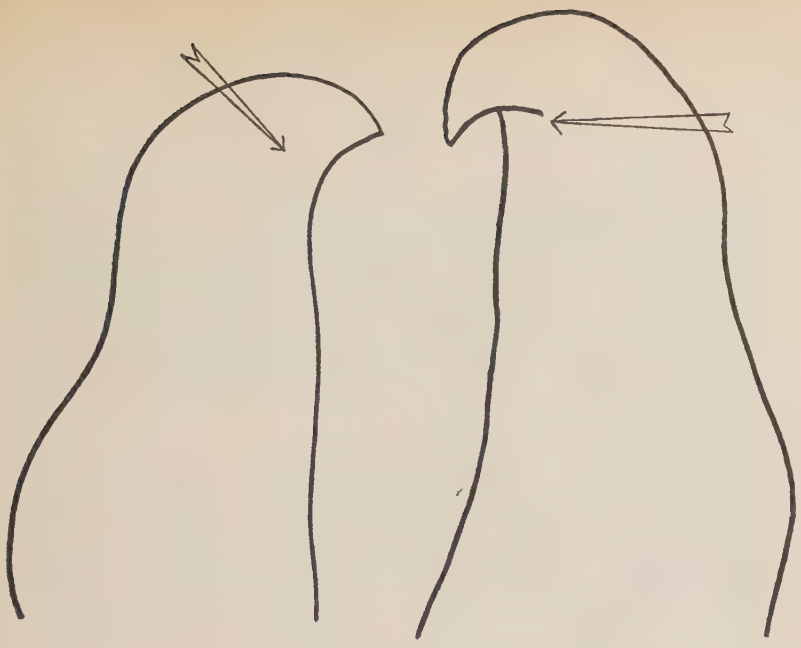
En intervenant toujours dans les mêmes conditions, nous avons réussi à obtenir un résultat final satisfaisant.

Toutefois, ce résultant a été très long à se dessiner, très tardif et très lent et il a été nécessaire de faire, pour la première fois, une septième infiltration dans les oreilles de ce chien.

Observation n° 13

« Quickly », chien Boxer âgé de deux ans et demi.

Ce chien avait eu les oreilles coupées à l'âge de six mois environ et elles n'avaient jamais redressé depuis, ce qui lui donnait une allure très disgracieuse car, à aucun moment de la journée, même lorsque son attention était retenue par quelque chose, il ne tenait ses oreilles normalement droites.



Oreille gauche

Oreille droite

FIG. 1

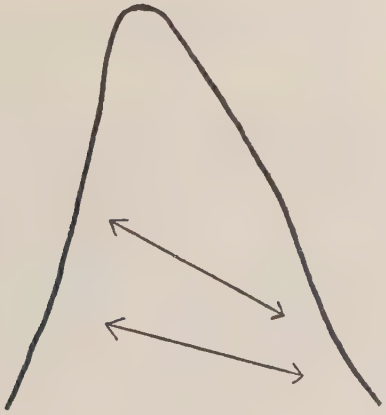


FIG. 2

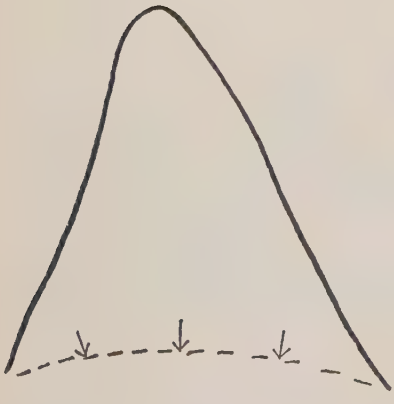


FIG. 3

FIG. 4

La palpation de ces oreilles nous révélèrent des tissus très épais et très mous.

En intervenant toujours par des infiltrations linéaires mais, de plus, en pratiquant des injections plus concentrées à la base de l'oreille, nous n'avons obtenu aucun résultat positif et pas la moindre amélioration dans le port d'oreille de ce chien.

En plus des exemples cités, il nous a été permis de traiter environ une vingtaine d'autres chiens avec un pourcentage de succès égal et un degré d'amélioration équivalent.

Examen histologique des divers prélèvements effectués

Il nous a paru indispensable d'essayer d'expliquer l'activité du produit en ayant recours à l'histologie.

Pour ce faire, on a traité dans les mêmes conditions que nous avons indiquées précédemment, c'est-à-dire une infiltration par semaine de 400 milligrammes de produit, une oreille d'un chat et une oreille d'un chien.

Les oreilles du chat traité ont été prélevées dans les jours suivant la fin du traitement, alors que les oreilles du chien traité n'ont été prélevées que quatre semaines après la fin du traitement.

1) Oreilles de chat

L'une de ces oreilles a reçu des injections d'une solution lyophilisée d'ostéoblastes ; au contraire, la deuxième oreille n'a pas été traitée et sert de témoin.

A l'examen histologique de l'oreille traitée, on retrouve, dans le derme profond, au delà du plan des

annexes de la peau, au contact du cartilage, une image très particulière. Il s'agit d'une infiltration de petites cellules à contour irrégulier et quelques fois étoilées. Ces cellules possèdent un noyau volumineux et basophile, ainsi qu'un cytoplasme peu abondant. Ces noyaux sont picnotiques.

2) Oreilles de chien

De même, pour cette expérimentation, il s'agissait de deux oreilles de chien, l'une traitée par injection d'ostéoblastes lyophilisés, l'autre non traitée.

Au niveau de l'oreille traitée, nous avons retrouvé une sclérose dense, collagène, peu cellulaire, développée au contact du cartilage dans le derme profond sous le plan des annexes de la peau.

Cette sclérose est mal limitée, mais assez étendue. Les ostéoblastes ont complètement disparu et il n'a pas été possible de mettre en évidence d'images de vestiges d'ostéoblastes.

D'autre part, cette sclérose est dense et très collagène, elle ne s'accompagne pas d'infiltration inflammatoire ni de granulome macrophagique.

3) Commentaires des résultats

Les deux examens histologiques précédents correspondent à deux stades opposés de l'expérimentation. L'examen des oreilles de chat prélevées peu de temps après l'injection d'ostéoblastes permet de retrouver ces cellules accompagnées d'une exsudation et de phénomènes congestifs.

Ceci est le premier stade du processus inflammatoire. Ce qui nous paraît important ici, c'est qu'il n'existe pas

PHOTOGRAPHIES PRISES AU MICROSCOPE DES PRELEVEMENTS FAITS SUR LES OREILLES DES ANIMAUX TRAITES

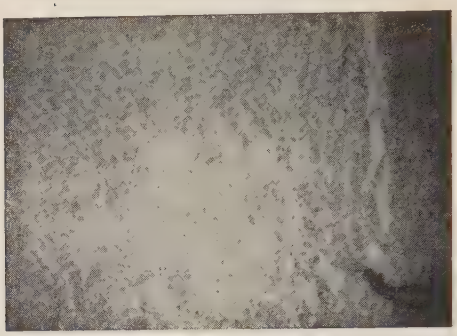


Photo n° 1.

On retrouve le cartilage
à droite
et le tissu conjonctif
péricartilagineux
fortement dissocié
et parsemé
par de petites cellules
qui sont les ostéoblastes
injectés.

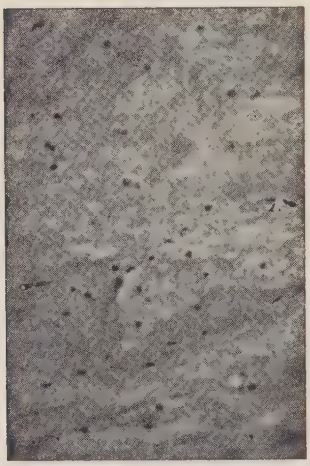


Photo n° 2.

Un fort grossissement de la photo
précédente
où l'on ne retrouve alors
que les ostéoblastes
entourés d'une substance anhiste.

Photo n° 3.

Petit nodule scléreux
résultant de phénomènes cicatriciels
en voie d'expérience.

d'infiltration inflammatoire, comme c'est le cas habituellement.

Les oreilles de chien, prélevées au contraire très longtemps après l'injection, présentent des lésions scléreuses et fibreuses.

C'est à partir de la substance retrouvée autour des ostéoblastes sur les oreilles de chat que la sclérose s'est développée. Tout d'abord, apparition de fibroblastes qui se sont accompagnés de fibres de collagène. En même temps, les ostéoblastes ont disparu, comme en témoigne l'aspect pycnotique de certains d'entre eux. L'hyperplasie collagène est devenue prépondérante et a formé un tissu très dense d'aspect lamellaire.

Cette sclérose s'est développée à l'endroit de l'injection et en particulier au contact du cartilage.

II. Utilisation du produit dans les chimiodystrophies osseuses des carnivores

I. Rappel physiologique

Il est nécessaire, pour comprendre l'utilité et l'utilisation du produit de rappeler tout d'abord quelques notions essentielles en replaçant l'activité des ostéoblastes dans son contexte physiologique osseux.

Le Professeur Moraillon résume ces notions.

a) *Période de croissance*

Avant de parvenir à l'état adulte, l'os doit subir un certain nombre de transformations plus ou moins complexes, selon qu'il s'agit d'un os d'origine cartilagineuse ou d'un os d'origine membraneuse. Prenons comme type la diaphyse d'un os long et voyons comment se déroule sa formation.

— Chaque pièce osseuse est représentée chez le fœtus par un moule cartilagineux entouré d'une lame de cellules conjonctives : le périchondre.

• L'ossification primaire commence à partir :

1° des cellules du périchondre qui deviennent ostéogéniques et forment une mince coque osseuse autour de la diaphyse : la virole périchondrale;

2° d'un noyau d'ossification situé au centre de la diaphyse et qui se trouve rejoint par un bourgeon vasculaire (future artère nourricière de l'os). Ceci aboutit à un os primaire, tissu sans structure lamellaire.

• Tandis que s'achève l'ossification primaire, s'amorce l'édification d'un second type d'os à point de départ périchondral ou périosté entraînant la formation de lamelles osseuses concentriques qui élargissent la diaphyse.

En même temps, l'os primaire est le siège d'un processus de résorption par les cellules de la moelle dont la cavité a tendance à augmenter de volume.

• Enfin, l'ossification tertiaire achève la transformation en os adulte; elle est le fait de vaisseaux venus soit de la périphérie, soit de la moelle.

Ces vaisseaux, entourés d'un manchon de cellules réticulaires, détruisent les tissus osseux secondaires pour les remplacer par des lamelles osseuses circulaires centrées sur chaque bourgeon vasculaire : chaque ensemble prend le nom de système de Havers ou ostéon — structure élémentaire du tissu osseux compact ou tissu Haversien.

L'ossification de la métaphyse et de l'épiphyse est plus tardive et aboutit à la formation d'un os spongieux creusé de nombreuses cavités médullaires.

Cet os formé, minéralisé, peut encore s'accroître jusqu'au moment où le sujet atteint l'âge adulte :

— en épaisseur, par le périoste qui édifie un tissu osseux lamellaire à sa face profonde (ossification périostée) ;

— en longueur, grâce à la persistance entre l'épiphyse et la diaphyse d'un cartilage qui conserve sa structure embryonnaire : c'est le cartilage de conjugaison qui assure l'ossification enchondrale. Il est constitué de rangées de cellules cartilagineuses et conserve une hauteur invariable jusqu'à l'âge adulte.

Ceci nous permet de constater que l'os est constitué de deux catégories de tissu :

— La première catégorie, tissu à métabolisme élevé, est représentée, d'une part, par le cartilage de conjugaison et la lame interne du périoste qui demeurent très actifs pendant la période de croissance et, d'autre part, par du tissu osseux spongieux disposé surtout dans les épiphyses et, dans les métaphyses, tissu à mailles très lâches, largement baigné par les humeurs, et qui participe directement aux échanges métaboliques en jouant le rôle essentiel de banque minérale.

— Le deuxième tissu osseux est l'os compact ou os haversien (diaphyse des os longs) qui a un rôle de soutien, qui a peu d'échanges avec l'organisme dans les circonstances physiologiques, mais qui joue un rôle de réserve pouvant intervenir dans les circonstances pathologiques.

b) *Remaniement osseux*

Qu'il soit en période de croissance ou qu'il ait terminé sa croissance, le squelette est le siège d'un remaniement continuel dans lequel interviennent et inter-

fèrent des processus de destruction et de reconstruction qui ne modifient pas normalement la forme de l'os, mais qui sont susceptibles d'altérer profondément la trame organique du tissu ou sa composition minérale.

c) *Structure de l'os*

En effet, l'os doit être considéré comme un tissu composé d'une trame organique sur laquelle se fixent des minéraux.

a) La trame organique (osséine) est formée, comme pour tous les tissus de type conjonctif, par des fibres collagènes plongées dans une substance amorphe, la substance fondamentale (formée par l'association de protéines et de mucopolysaccharides) et par des cellules — éléments essentiels de cette trame organique — ce sont les ostéocytes, les ostéoclastes et les ostéoblastes.

Les ostéocytes, petites cellules logées dans des cavités de la substance osseuse, bien que peu actifs, ont un rôle nourricier et leur lyse entraîne la nécrose de tout le territoire osseux voisin.

Les ostéoblastes, cellules géantes multinucléées, réparties à la surface de la travée osseuse, jouent un rôle important dans la destruction de l'os.

Les ostéoblastes, disposés au contact de la lamelle osseuse le plus interne de l'ostéon, interviennent dans l'ostéogenèse

— en fabriquant la substance fondamentale,

— en jouant un rôle de distributeur d'énergie utilisée pour l'édification osseuse grâce aux cytochromes oxydases qu'ils contiennent,

— enfin en participant à la calcification, car ces cellules produisent des enzymes qui ont le pouvoir d'extraire le radical phosphate de ses com-

binaisons : ce sont les phosphatases, dont le rôle est essentiel dans l'ossification.

Toutes les cellules de la trame organique proviennent de la transformation des cellules réticulaires, ce qui permet de comprendre qu'elles pourront facilement se transformer au cours de la vie de l'os.

b) Revêtement minéral.

Sur cette trame organique, ou osséine, se fixe un revêtement minéral, important quantitativement (quarante-cinq pour cent du poids de l'os) et composé surtout de calcium et phosphore, mais aussi de sodium, potassium, magnésium, fluor et aussi de carbonates, citrates, lactates. Les sels minéraux essentiels sont le phosphate tricalcique (75 p. cent) et le carbonate de chaux (10 p. cent des minéraux), qui sont à l'état de combinaisons microcristallines hexagonales du type des hydroxyapatites. Chacun de ces cristaux d'hydroxyapatite relativement stable est entouré par une couronne d'ions libres en équilibre de diffusion avec le sang, ce qui explique la participation très active de l'os à la régulation du métabolisme hydro-électrolytique et sa sensibilité aux variations de l'équilibre acido-basique.

Ayant ainsi défini la structure du tissu osseux, nous pouvons aborder les modalités de son remaniement permanent, à savoir : ostéogenèse et ostéolyse, et surtout le mécanisme régulateur de ces phénomènes.

d) *Ostéogenèse*

L'ostéogenèse comporte deux temps :

— production de la trame organique apte à fixer le calcium (tissu ostéoïde ou substance préosseuse ou osséine) ;

— minéralisation de la substance préosseuse.

1) L'osséinogenèse, qui nécessite un métabolisme protidique normal, est le fait des ostéoblastes, comme le démontrent les expériences modernes faisant appel à des mesures de radioactivité après injection intrapéritonéale chez le rat de glycine marquée au trictium; une heure après l'injection, la radioactivité est concentrée dans les ostéoblastes; six heures plus tard, l'isotope a quitté les ostéoblastes et se retrouve dans le tissu ostéoïde. Toute anomalie dans la formation de la substance préosseuse entraîne une impossibilité de l'ossification, donc une atrophie du tissu osseux ou ostéoporose.

2) La deuxième phase de l'ostéogenèse est la minéralisation, qui se fait en deux temps :

a) *Nucléation :* fixation d'un premier cristal hydroxyapatite (nucléus), sorte d'ensemencement ou de mordançage de la trame protéique qui permet le deuxième temps;

b) *Cristallisation :* accroissement du cristal élémentaire par agglomération autour de celui-ci de nouvelles molécules d'hydroxyapatite. Ce deuxième temps peut être plus ou moins complet et le cristal osseux peut devenir plus ou moins important, ce qui est à considérer sur le plan thérapeutique car le calcium fourni à doses élevées peut entraîner, par ce phénomène, une augmentation de la charge minérale osseuse.

Il faut, pour que la minéralisation se produise, que certaines conditions locales se trouvent réunies :

— trame protéique apte à recevoir le premier cristal d'hydroxyapatite;

— concentration phospho-calcique locale doit être suffisante (calcémie mg/litre × phosphorémie mg/litre, au moins égale à 3 000);

— rôle essentiel de l'ion calcium qui exerce une

action assez comparable à celle qu'il a dans la coagulation ;

— rôle essentiel de l'ion phosphate, donc des phosphatases des ostéoblastes, qui concourent à libérer ces ions phosphates et, par là, à augmenter le produit Ca × P ;

— importance de l'équilibre acido-basique, *in situ* : le pH alcalin à partir de 7,45 favorise la calcification alors que l'acidose favorise la déminéralisation.

Tout dérèglement de la minéralisation aboutit à la production d'ostéopathies malaciques : rachitisme chez le jeune, ostéomalacie chez l'adulte.

2) Utilisation thérapeutique dans l'ostéoporose

a) *Ostéoporose du chien*

On rappelle que l'ostéoporose est une chimiodystrophie osseuse malacique caractérisée sur le plan de l'anatomie pathologique par un amincissement et une raréfaction des travées du tissu osseux spongieux.

Les symptômes essentiels sont fonctionnels et physiques.

Du point de vue fonctionnel, on remarque tout de suite une douleur à la marche parfois suffisante pour empêcher les animaux de marcher.

L'impotence peut aller jusqu'à la parésie du train postérieur ou même la paralysie entraînant alors un décubitus permanent.

Parfois les douleurs ne se révèlent qu'à la palpation de la colonne vertébrale.

On remarque parfois des fractures spontanées avec un type de fracture dit « en bois vert ».

Du point de vue physique, l'inspection du chien

ostéoporotique montre d'importantes déformations du squelette.

La colonne vertébrale est déformée par une cyphose et par une lordose. Les membres plus courts semblent vrillés en raison de l'incurvation de la diaphyse des os longs.

La palpation est douloureuse et permet souvent de noter des déformations dans la région diaphysaire de l'os dues à des foyers de fracture ou plus fréquemment à des zones d'enfoncement de la corticale des os longs qui est devenue très mince.

Enfin, au point de vue radiologique, on constate une extrême raréfaction du tissu osseux entraînant l'hyper-transparence de tout le squelette qui prend sur le cliché un aspect grisâtre et se distingue très mal des divers tissus mous. Les cavités médullaires sont élargies tandis que les corticales amincies prennent un aspect linéaire.

Utilisation thérapeutique.

1) On a d'abord traité deux jeunes caniches âgés de trois mois qui présentaient les symptômes précédemment décrits, mais surtout des algies suraiguës de la colonne vertébrale et une impotence complète.

L'un des deux avait même une fracture spontanée sans déplacement au niveau d'un fémur et d'un tibia du même côté.

Ces deux jeunes chiens ont reçu le traitement classique approprié, soit essentiellement un régime riche en viande et l'administration de substances anabolisantes, c'est-à-dire des stéroïdes anabolisant et également une thérapeutique réminéralisante comprenant, soit le sirop de galactogluconate de calcium ou des comprimés de glucolactate de calcium, comme l'indique le Professeur Moraillon.

Toutefois on y a ajouté une injection toutes les

quarante-huit heures de 400 milligrammes du produit et ceci à cinq reprises.

On a alors constaté une amélioration rapide de l'état des sujets, avec une diminution des algies et une reprise progressive de la marche.

On a abouti à un résultat tout à fait satisfaisant, sans séquelles, au bout de cinq semaines environ.

2) On a également traité un jeune Dogue allemand de trois mois et demi qui était présenté dans les mêmes conditions.

Le traitement de base a été le même, mais on a pratiqué huit injections de 400 milligrammes du produit à quarante-huit heures d'intervalle.

On a là aussi obtenu un bon résultat en cinq semaines environ.

Ces résultats sont intéressants dans la mesure où les cas d'ostéoporose qu'il nous a été permis d'observer, traités classiquement, amenaient des résultats plus longs, plus incertains et, surtout, il persistait des déformations après la guérison clinique.

Explication physiopathologique de l'activité du produit.

On a déjà rappelé le rôle fondamental des ostéoblastes dans l'osséinogenèse. Or la théorie la plus anciennement connue d'explications de l'ostéoporose est la théorie d'Albright qui attribue un rôle capital à l'insuffisance de la trame protéique. Cette insuffisance de la trame protéique est d'ailleurs d'origine très variable et peut être due à une insuffisance d'apport, insuffisance d'absorption ou d'utilisation des protéines. Toutefois, quelle que soit cette origine, on comprend qu'on y remédie si l'on apporte directement les artisans de cette édification.

D'ailleurs, à l'examen histologique au microscope de coupe d'os ostéoporotique, les travées osseuses sont très

raréfiées, forment un fin réseau discontinu, fragmenté, et ne sont plus bordées par un liseré ostéoïde, et surtout on remarque que les ostéoblastes sont rares et peu actifs.

b) *Ostéoporose du chat*

Cette chimiodystrophie osseuse est caractérisée chimiquement par d'importantes déformations du squelette et anatomiquement par une raréfaction osseuse.

On remarque souvent un arrêt de la croissance ou une certaine difficulté locomotrice malgré une grande nervosité.

L'aspect général du malade est caractéristique, la tête est globuleuse, le cou réduit, la cavité thoracique semble petite avec un abdomen ballonné.

D'importantes déformations osseuses existent toujours avec coudure des os des membres, déformation de la colonne vertébrale par deux lordoses dorsale et lombaire et une cyphose thoraco-lombaire.

A la palpation, on constate un manque de résistance des diaphyses et une grande douleur au niveau de la colonne vertébrale.

Les signes fonctionnels et radiologiques sont comparables à ceux du chien, avec sur les clichés une colonne vertébrale sinueuse.

Utilisation thérapeutique.

On a eu l'occasion de traiter huit chats qui présentaient ces symptômes avec des degrés variables d'intensité.

De la même façon, on a pratiqué le traitement de base comprenant l'administration de glucocorticoïdes à faible dose, des hormones sexuelles en choisissant l'hormone du sexe de l'animal. On administre également des

doses importantes de calcium ainsi que des vitamines A et E.

Mais là encore, on a pratiqué d'une façon concomitante cinq injections de 40 milligrammes de produit toutes les quarante-huit heures.

Sur les chats traités, on constate une amélioration rapide de l'état général, une diminution des algies et une reprise de la locomotion.

On a ainsi obtenu sept résultats très intéressants avec une guérison complète en six à huit semaines ou avec des séquelles de déformations osseuses discrètes.

Sur un cas, on a dû procéder à l'euthanasie du malade qui présentait un rétrécissement du bassin tel qu'une constipation incoercible s'était ensuivie et qu'il n'était pas possible de dégager les matières fécales.

Là encore l'intérêt du produit consiste dans le fait que son utilisation pour compléter la thérapeutique amène une amélioration plus rapide qu'avec un traitement classique, et les séquelles, qui sont fréquentes, sont beaucoup plus discrètes.

3) Le rachitisme

C'est une ostéopathie chimiodystrophique malacique apparaissant au cours de la croissance, caractérisée par un défaut de minéralisation de la substance préosseuse qui a tendance à s'hypertrophier et à provoquer des déformations du squelette.

Symptômes cliniques.

Les symptômes physiques sont donnés par les déformations osseuses portant sur les différentes parties du

squelette qui apparaît dans son ensemble de taille réduite. Les déformations les plus apparentes se voient sur les membres: ce sont les tuméfactions juxta-articulaires symétriques et indolores.

Le thorax est aplati, les mâchoires semblent gonflées.

Les symptômes fonctionnels inconstants et beaucoup plus discrets que dans l'ostéoporose se traduisent par un état d'asthénie et des difficultés locomotrices.

Symptômes radiologiques.

La radiologie des membres et surtout le cliché de face ou de profil de l'articulation radio-carpienne permet de voir que chez l'animal normal l'ombre de la diaphyse du côté de l'épiphyse est une ligne transversale très régulière, comme coupée au couteau.

Chez le rachitique, on assiste à l'élargissement des extrémités diaphysaires qui deviennent plus denses radiologiquement que la corticale adjacente.

Les épiphyses paraissent éloignées de la diaphyse par suite de l'augmentation de l'épaisseur du cartilage de conjugaison et prennent une forme concave en cupule irrégulière.

Symptômes biologiques.

Le signe biologique essentiel est l'augmentation nette et précise de phosphatases alcalines qui peuvent atteinle chiffre de 20 à 30 unités Bodansky, augmentation attribuée à une élévation de l'activité ostéoblastique en réaction contre l'insuffisance du calcium.

Utilisation thérapeutique.

On a eu l'occasion de traiter :

— cinq Bergers allemands âgés de quatre à six mois,
— deux Dalmatiens âgés de cinq à sept mois,
— un Groenendaël âgé de cinq mois.

Les chiens présentaient à des degrés variés les signes chimiques et radiologiques précédemment décrits.

On a bien sûr traité ces chiens en leur administrant du calcium sous forme de lactate-gluconate de calcium qui réserve un apport calcique très important.

Une vitaminothérapie D a également été instituée avec des doses quotidiennes de 1 000 à 2 000 U par voie buccale.

Toutefois, comme précédemment, d'une façon concomitante, on a pratiqué sur ces chiens des injections toutes les quarante-huit heures de 400 milligrammes d'extraits ostéoblastiques : de quatre à huit injections suivant le cas.

Les résultats ainsi obtenus ont été très satisfaisants, avec une amélioration clinique nette en une semaine et une guérison complète en trois à cinq semaines suivant le cas.

Seul un Dalmatien ainsi traité a quand même gardé des déformations osseuses au niveau des membres, en particulier au niveau des articulations radio-carpiennes.

Là encore l'intérêt du produit réside dans l'amélioration et la plus grande rapidité des résultats obtenus qu'avec le traitement classique.

On explique ces résultats en rappelant que les ostéoblastes ont une activité déterminante dans la calcification car elles produisent des enzymes qui ont le pouvoir d'extraire le radical phosphate de ses combinaisons. Ce sont les phosphatases, dont le rôle est essentiel dans l'ossification.

Il y a donc une meilleure utilisation du calcium apporté quand on amène ces phosphatases par l'intermédiaire des ostéoblastes.

III. Utilisation du produit en pathologie traumatique osseuse

En connaissant l'activité des ostéoblastes dans l'ostéogenèse, on a pensé utiliser ce produit comme agent thérapeutique dans la pathologie traumatique osseuse, c'est-à-dire essentiellement pour essayer d'accélérer la réparation des fractures.

Ainsi, pendant un an, systématiquement, on a traité les animaux qui nous étaient présentés pour fracture.

On a ainsi eu l'occasion d'intervenir sur quatre-vingt-six cas de fractures dont environ la moitié a justifié une ostéosynthèse.

La répartition de ces fractures était la suivante :

— Tout d'abord il s'agissait de cinquante-cinq chiens et trente et un chats.

— Au point de vue localisation de ces fractures, on a observé :

51 fractures du fémur,
13 fractures du radius, cubitus ou radius-cubitus,
12 fractures du bassin,
6 fractures de l'humérus,
4 fractures des doigts.

Donc, quelle que soit l'intervention faite, c'est-à-dire que l'on fasse une ostéosynthèse ou une réduction externe et un plâtre ou un plâtre seulement, on a pratiqué sur les animaux des injections d'extraits ostéoblastique dans les conditions suivantes : entre le quatrième et le douzième jour après la fracture, on injecte par voie intramusculaire ou, si cela est possible, dans

la zone du foyer de fracture des doses allans de 200 à 400 milligrammes, suivant la taille du sujet, et ce, toutes les quarante-huit ou soixante-douze heures, également suivant la taille du sujet et aussi suivant la gravité de la fracture.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

L'impression générale qui se dégage est que la consolidation est plus rapide chez les animaux traités.

D'une façon plus précise : les premières images de calcification sont visibles dès le huitième jour après la fracture, des îlots opaques aux rayons X sont observés dans le cal périphérique et au contact des fragments osseux. Le manchon osseux se développe autour du foyer de fracture.

Le vingtième jour, le cal est beaucoup plus développé et plus opaque aux rayons X.

Le trentième jour, le cal externe est radiologiquement ossifié, seules persistent des zones claires dans l'espace interfragmentaire.

Il y a donc une accélération importante de la consolidation de la fracture et cela est particulièrement intéressant en chirurgie vétérinaire où les moyens de contention sont souvent mal tolérés et constituent parfois un problème aussi difficile que l'intervention chirurgicale elle-même.

Parmi ces cas envisagés, le processus réparateur décrit constitue une moyenne; on note quelques différences de vitesse de réparation entre les différents cas. On a observé d'autre part un cas de retard important dans la consolidation et un cas où il a été nécessaire de réintervenir chirurgicalement par ostéosynthèse.

Il est nécessaire de rappeler brièvement les phases successives de l'élaboration du cal pour comprendre l'activité des ostéoblastes.

1) Rappel histologique et histochimique

Flandre, M^lle^ Damon, Secchi, Peillex et Antoine ont très bien décrit les stades successifs de l'élaboration du cal. En effet, d'après ces auteurs :

L'étude histologique et histochimique de l'ossification réparatrice est réalisée sur des biopsies prélevées quotidiennement la première semaine, puis tous les cinq jours jusqu'au quarantième jour.

a) *Stade précoce*

Ce stade est caractérisé par la formation d'un hématome qui pénètre dans le foyer de fracture et s'étend au dehors dans le tissu conjonctif. Le caillot sanguin est limité par une coque fibreuse.

Les fragments osseux sont le siège de phénomènes ischémiques, les ostéocytes sont détruits. Les processus nécrotiques s'étendent au périoste et à la moelle osseuse.

Autour du foyer de fracture, des phénomènes congestifs œdémateux se développent. Cette phase d'inertie ne dépasse pas douze heures.

b) *Formation du cal*

La réaction cellulaire conjonctive prend place rapidement. Le cal externe se développe à partir de la couche ostéogénique du périoste et du tissu conjonctif; dans les foyers de fracture, le cal interne est formé par des éléments ostéogéniques de l'endoste et par des cellules de la moelle osseuse.

Le cal externe est d'abord conjonctif. Il est formé en partie par les éléments cellulaires inflammatoires qui ont envahi le foyer : fibroblastes, histiocytes et monocytes. Ce tissu conjonctif pénètre dans le foyer de fracture, colonise l'hématome périfracturaire et s'étend à distance jusqu'au décollement périostique.

Dans cette zone, les cellules de la couche ostéogénique du périoste se multiplient très activement, se transforment en fibroblastes. Le tissu conjonctif ainsi formé a une trame fibreuse très développée, riche en fibres de collagène et de réticuline.

Ce stade purement conjonctif dure peu. Vers le douzième jour, du cartilage apparaît et du tissu ostéoïde se développe à partir de la couche ostéogénique du périoste.

Le cal fibro-cartilagineux est riche en mucopolysaccharides acides; la réaction de Hale est positive, le bleu de toluidine colore de façon métachromatique la substance fondamentale, la réaction au P.A.S. est faiblement positive. La réaction à la ninhydrine-Schiff est positive.

Dans les zones cartilagineuses, les chondroblastes et la substance foindamentale sont riches en phosphatases alcalines (réaction de Gomori positive).

La couche fibreuse du périoste se prolonge autour du cal périphérique, mais ne participe pas activement à son édification.

Le tissu cartilagineux s'accroît, alors que le tissu conjonctif régresse; le cartilage est facilement identifié sur les coupes colorées par le bleu alcian ou par la double coloration bleu alcian - picrofuchsine. La vascularisation est assurée par un réseau très ramifié constitué de vaisseaux de petit et moyen calibre.

A partir de la couche ostéogénique du périoste se développent des travées d'os qui envahissent les zones cartilagineuses. La ligne de démarcation entre le cartilage et l'os s'atténue, les deux tissus pénètrent l'un dans l'autre sans interruption. Les zones en voie d'ossification sont riches en mucopolysaccharides et en phosphatases alcalines, réaction de Hale positive, coloration méta-

chromatique au bleu de toluidine, réaction de Gomori positive.

Au trentième jour, dans le cal fibro-cartilagineux apparaissent des zones d'ossification dues à la transformation osseuse du tissu conjonctif et cartilagineux, certains fibroblastes se transforment directement en ostéoblastes sans passer par le stade cartilagineux.

Finalement, vers le quarantième jour, le cal externe est en grande partie ossifié, mais des zones cartilagineuses sont encore visibles. Le tissu de réparation unit les fragments osseux les uns aux autres. Le cal est alors moins vascularisé; entre les travées du tissu ostéoïde, on trouve des cellules mobiles du tissu conjonctif qui entourent des vaisseaux d'assez gros calibre.

Le cal interne se développe entre les fragments osseux à partir de la couche ostéogénique de l'endoste et des cellules de la moelle osseuse. Un réseau de néo-vaisseaux apparaît dirigée vers le foyer de fracture.

L'espace interfragmentaire est d'abord envahi par le cal conjonctif, dans la cavité médullaire apparaissent des travées d'os trabéculaires provenant de l'endoste, qui progressent vers la zone fracturée et pénètrent le cal fibreux.

Entre les fragments osseux se développe également un cal fibreux puis fibro-cartilagineux prolongement du cal périphérique. Ce tissu conjonctif irrigué par un réseau de vaisseaux de petit calibre développé à partir du périoste. L'évolution du cal interne est plus lente que celle du cal externe. L'ossification semble se faire davantage par transformation des cellules de la moelle osseuse et par la prolifération des cellules ostéogéniques de l'endoste.

Lorsque le cal périphérique est ossifié, il reste dans le cal interne de grandes zones fibro-cartilagineuses dont l'ossification est plus tardive.

c) *Stade de remodelage du cal*

Cette phase se déroule lentement, lorsque l'ossification est complète. Elle achève la consolidation, mais ne pose pas les mêmes problèmes que les phases initiales. Elle se poursuit très longtemps.

En résumé, le schéma évolutif des fractures témoins est le suivant. Pendant les dix premiers jours qui suivent la fracture se développe autour des os fracturés et entre les fragments un cal fibro-cartilagineux irrigué par un réseau vasculaire néo-formé. Ce tissu est riche en mucopolysaccharides acides et neutres en phosphatases alcalines.

Entre le quinzième et le vingtième jour, les phénomènes d'ossification se développent à partir de la couche ostéogénique du périoste, mais également par transformation osseuse du tissu cartilagineux et conjonctif; le cal interne se développe à partir des cellules de la moelle osseuse et de la couche ostéogénique interne de l'os.

Il apparaît donc qu'excepté les tout premiers jours les ostéoblastes, directement ou indirectement par les enzymes qu'ils produisent, interviennent à tous les stades de l'élaboration du cal.

2) *Utilisation*

On peut alors penser qu'il est intéressant d'apporter ces ostéoblastes au début du processus réparateur dont ils favoriseront l'élaboration et qu'il en résultera ainsi une réparation plus rapide.

IV. Utilisation du produit dans les leucopénies

On a vu, dans la partie expérimentale de l'étude du produit, que l'extrait ostéoblastique avait une action très

remarquable en modifiant la formule blanche, c'est pourquoi on a pensé utiliser le produit dans les maladies par carence en globules blancs, c'est-à-dire les leucopénies.

Les leucopénies sont relativement peu fréquentes chez les petits carnivores domestiques, seule la leucopénie infectieuse du chat est parfois diagnostiquée dans cet ordre d'idée, et encore les cas observés sont-ils assez rares. Cela peut tenir au fait que dans le cadre des typhus il est souvent difficile de distinguer gastro-entérite infectieuse et leucopénie, et on se trouve dans la plupart des cas devant des formes intermédiaires.

On n'est donc amené à faire une prise de sang, souvent délicate chez le chat, que si l'on rencontre une forme qui répond aux caractéristiques traditionnelles de la leucopénie infectieuse, c'est-à-dire avec une apparition brutale, d'emblée alarmante, et un état de prostration extrême, une hypothermie succédant très vite à une hyperthermie fugace, une déshydratation, un amaigrissement spectaculaire.

A quatre reprises, on a donc contrôlé la numération et la formule sanguines.

On a constaté alors une diminution du nombre des leucocytes, surtout des polynucléaires, de façon précoce et massive.

L'importance de l'agranulocytose est très importante. Après une phase fugitive d'hyperleucocytose, le nombre des leucocytes, normalement de 9 000 à 12 000 par millimètre cube, était tombé respectivement à :

1 200 par millimètre cube
3 400 —
70 —
450 —

Dans tous les cas, on a procédé immédiatement et

avant tout traitement à une injection par voie sous-cutanée de 400 milligrammes d'extraits ostéoblastiques, et l'on était surpris de la reprise rapide, au bout d'une à deux heures, d'une certaine gaieté de l'animal qui retrouvait une partie de son dynanisme. On a vu des chats remanger pendant cette période « euphorique ».

Un contrôle hématologique dans les heures qui suivaient montrait une remontée spectaculaire de la formule blanche.

Dans trois de ces cas, on a immédiatement poursuivi le traitement avec l'administration de la médication classique, c'est-à-dire une séromisation importante et des antibiotiques. Mais, dans le dernier cas, on a administré exclusivement des ostéoblastes pendant quarante-huit heures chaque fois que le malade semblait reprendre son état de prostration, et chaque fois l'injection semblait avoir sur lui une action euphorisante.

Toutefois, devant ce résultat spectaculaire mais fugace, on a repris la médication traditionnelle.

On peut se demander néanmoins si ces modifications hématologiques sont bien spécifiques. D'une façon générale, on observe des troubles identiques et en particulier une leucopénie accusée dans la plupart des états de choc. Enfin tous les auteurs s'accordent pour dire que dans la leucopénie infectieuse du chat la diminution du nombre des leucocytes est d'autant plus marquée que les troubles cliniques paraissent plus graves et l'évolution plus rapide.

On peut alors penser que les extraits ostéoblastiques agiraient comme agent déchoquant et antistress, mais on ne peut ici faire que des hypothèses.

CONCLUSION

On voit donc que les extraits ostéoblastiques peuvent être utilisés dans des conditions très variées, mais donnant toujours des résultats très intéressants.

Tout d'abord, bien sûr, on les utilise en pathologie osseuse, qu'elle soit traumatique ou chimiodystrophique, et cette utilisation est normale et logique quand on connaît leur activité ostéogénique.

Dans ce domaine, c'est surtout une amélioration de la qualité du résultat qui est intéressante car, quantitativement, on obtient le même nombre de résultats positifs qu'avec les traitements classiques.

En pathologie traumatique, c'est aussi une amélioration de la rapidité du résultat qui est permise par l'utilisation des extraits ostéoblastiques; mais ceci est très important car, dans un domaine où les malades supportent parfois mal la contention ou l'immobilisation, la rapidité du résultat obtenu est parfois indispensable pour l'obtention d'un bon résultat, et le gain de temps de 10 à 15 pour cent ainsi permis est particulièrement appréciable.

Mais l'utilisation du produit pour le redressement des oreilles des chiens dont le port est défectueux reste le domaine original dans le cadre de cette utilisation.

Cette activité nous a paru particulièrement intéressante dans un domaine où jusqu'à maintenant rien n'avait été employé de vraiment efficace, or les résultats obtenus ont été très encourageants.

Il a été nécessaire de faire appel à l'histologie pour tenter d'expliquer l'activité du produit. En effet, il nous a paru rationnel et logique d'élaborer une hypothèse visant à expliquer l'activité d'un produit dans un domaine qui ne lui était pas destiné.

Le dernier chapitre étudié, qui est peut-être le moins bien connu, est celui des hémopathies par carence en globules blancs. Dans ce domaine, les observations sont trop rares et les maladies en cause trop peu connues pour que l'on puisse échafauder des hypothèses. Pourtant ce domaine est loin d'être le moins intéressant.

Finalement les extraits ostéoblastiques sont intéressants à plus d'un titre et leur utilisation devrait bientôt rentrer dans la pratique courante.

Vu :
Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur,
M. BERTHELON.

Vu :
Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire
R. FLORIO.

Vu :
Le Président de la Thèse.
P. FABRE.

Vu : *Le Doyen,*
Pour le Doyen, l'Assesseur,
J. BREUILLAUD.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 8 avril 1970.
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université.
C. CHALIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bourne G. H. — The biochemistry and physiology of bone. — *Acad. Press,* 1956.
2. Chevrance L. G. — Etude comparative de la décalcification des structures osseuses de la capsule otique et des osselets à l'aide des solutions acides usuelles et d'un chélateur. — Thèse de 3e cycle, Faculté des Sciences de Paris, 1961.
3. Cerati E., Pinelli A., Vincenzi L. — *Rend. Sc. Istit. Lombardo,* 1964, 98, 123-136.
4. Cretin A. — *Presse Méd.,* 1951, 59, 1240-1242.
5. Flandre O., Damon M., Secchi J., Ciurana I. — *Ann. Anesth. franç.,* 1965, 6, 625-635.
6. Flandre O., Damon M., Secchi J. — « Thérapie » (sous presse).
7. Fontaine R., Chevallier A., Mandel P., Wiest E. — *Lyon Chir.,* 1950, 45, 145-160.
8. Fontaine R., Chevallier A., Klein M., Mandel P., Wiest E. — *Lyon Chir.,* 1952, 47, 23-26.
9. Fontaine R., Mandel P., Wiest E. — *Mém. Acad. Chir.,* 1952, 78, 351-359.
10. Fullmer H. N. — *Intern. Rev. Connective tissue Research,* 1965, 3, 1-65.
11. Gomëz Beltran J. M. — *Arch. Inst. Farmacol. Exp. Esp.,* 1960, 12, 205-239.
12. Ham A. W., Harris W. R. — *In* « The Biochemistry and Physiology of Bone ». — G. H. Bourne, édit. *Acad. Press,* 1956.
13. Howes E. L., Plotz C. M., Blunt J. W., Ragan C. — *Surgery,* 1950, 28, 177-181.
14. Iselin M. — *Path. Biol.,* 1962, 10, 1579-1581.

15. Judet J., Judet R. — Rapport au VIIIe Congrès international de Chirurgie orthopédique, New York, 1960.
16. Kowalewski K., Gort J. — *Acta Endocrinol.,* 1959, 30, 273-276.
17. Kowalewski K. — *In* « Protein metabolism ». — Intern. Sympos., Leyden, 1962 ; Springer Verlag, édit.
18. Lagrot L. et coll., Pessereau G. et coll. — *Ann. Anesth. franç.,* 1965, 6, 635-643.
19. Leriche R., Policard A. — Les problèmes de la physiologie normale et pathologique de l'os. — Masson, édit., Paris, 1926.
20. Lichtwits A., Parlier R., Clément D. — *Path. Biol.,* 1958, 6, 295-311.
21. Lison L. — Histochimie et cytochimie animale, 3e éd. Gauthier-Villard, édit., 1960.
22. Pritchard J. J. — *Journ. Anat.,* 1946, 80, 55-59.
23. Ragan R., Howes E. L., Plotz C. N., Blunt J. W. — *C. R. Acad. Sc.,* 1950, 230, 327-329.
24. Simpson M. E., Van Dyke D. G., Asling C. W., Evans H. M. — *Anat. Rec.,* 1953, 115, 616-627.
25. Sissons H. A., Hadfield G. J. — *Brit. Journ. Surg.,* 1952, 39, 172-178.
26. Trueta J. — VIIIe Congrès international de Chirurgie orthopédique, New York, 1960.
27. Weidmann S. M. — *Intern. Rev. Connective tissue Research,* 1963, 1, 339-375.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 11

ETUDE DU PRODUIT

I. Préparation 15

II. Stérilité 16

III. Propriétés analytiques 16

IV. Toxicologie 18

ETUDE EXPERIMENTALE

I. Expérimentation sur des animaux de laboratoire 20

II. Expérimentation sur la multiplication des ophryoglènes 24

UTILISATION THERAPEUTIQUE

I. Pour le redressement des oreilles de chiens 28

II. Dans les chimiodystrophies osseuses des carnivores 42

1) Rappel physiologique 42

2) Utilisation dans l'ostéoporose 49

3) Utilisation dans le rachitisme 53

III. Utilisation en pathologie traumatique osseuse 56

IV. Utilisation dans les leucopénies 61

Conclusion 64

Bibliographie 67

IMPRIMERIE TOULOUSAINE (Vve LION)
16, rue Lakanal - TOULOUSE

Dépôt légal 1e trim. 70, Aa 585